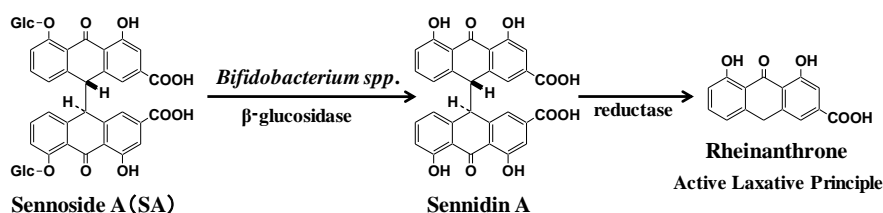


學位論文要旨

大黃甘草湯と腸内微生物叢のクロストークに着目した漢方薬の有用性の解明

福山大学薬学部 漢方薬物解析学研究室
高山 健人

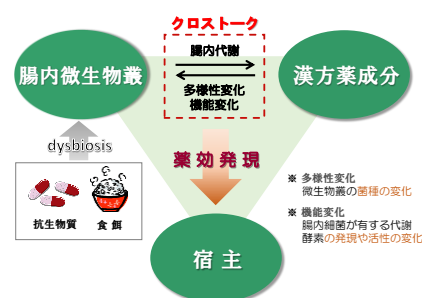
漢方薬は数千年の年月をかけた莫大な臨床実績の上に確立された薬物であり、特に大黄を含む漢方薬（大黄剤）は下剤作用を期待されて使用される。大黄剤の基本処方である大黄甘草湯は、大黄と甘草の二味から成る漢方薬で、二重盲検臨床比較試験で便秘症における有用性が証明されている。大黄甘草湯の主有効成分であるセンノシド A (SA) は、ビフィズス菌 (*Bifidobacterium sp.* SEN) 由来の β -グルコシダーゼにより加水分解を受けセニジンとなり、さらに還元されて瀉下活性本体であるレインアンスロンへ変換され下剤活性を示す (Fig. 1)。しかし、漢方薬は複数の生薬を組み合わせる処方が構成される複合成分系薬物であるため、個々の成分の意義やそれらの相互作用などを十分に考慮する必要がある。構成生薬の主要成分のみで漢方薬の本質や特徴的な薬効を説明することはできない。



【 Fig. 1 】

腸内微生物叢は約 100 兆個もの腸内細菌によって構成されており、栄養素などの物質代謝や病原体に対する生体バリアの強化、免疫機能の賦活化などさまざまな機能を担っている。近年では、腸内微生物叢の破綻によりアレルギー疾患やメタボリックシンドローム、精神神経疾患などさまざまな疾病の発症に関与することが明らかとなり、宿主の変化に腸内微生物叢の直接的な関与が科学的に証明され始めている。

以上のことから、漢方薬成分は腸内微生物叢によって代謝されるだけでなく、腸内微生物叢の多様性や機能に影響を及ぼしていると推測した。すなわち、漢方薬成分と腸内微生物叢のクロストークの結果が、漢方薬の特徴的な薬効として宿主に発現しているのではないかと考え、作業仮説を立てた (Fig. 2)。

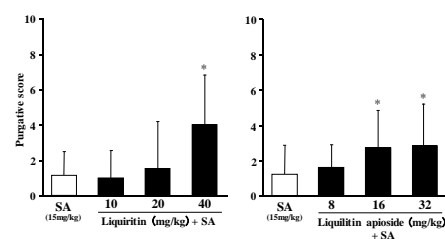


【 Fig. 2 】

本研究では第1編において、大黃および甘草に含まれるSA代謝促進成分を同定し、その作用機序を明らかにすることで腸内微生物叢における多様性や機能に与える影響を証明し、複合成分系薬物としての大黃甘草湯の有用性を解明する。また、第2編では、腸内微生物叢の構成を変化（dysbiosis）させる抗生物質や食餌を摂取させ、SA代謝促進成分と腸内微生物叢のクロストークの変化に適応する大黃甘草湯の有用性を解明する。

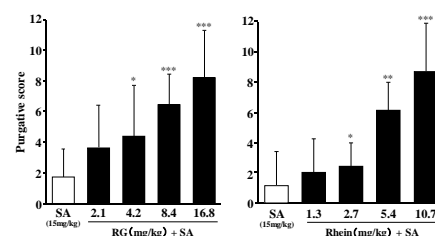
第1編 複合成分系薬物としての大黄甘草湯の有用性の解明

大黄甘草湯における甘草の配合意義については科学的なエビデンスが乏しかったことから、大黄に甘草を配合して下剤活性変化を検討したところ、甘草の配合により大黄の下剤活性を有意に増強した。そこで、マウスの糞便懸濁液を用いた非侵襲性で簡便な腸内代謝実験法を応用し、SA 代謝における甘草成分の影響を検討した。その結果、甘草ならびに甘草の主要なフラボノイド成分であるリクイリチン (LQ) およびリクイリチンアピオシド (LA) を添加することで、SA 代謝が促進することを明らかにした。さらに、下剤活性試験において、LQ や LA を SA と同時経口投与することで SA の下剤活性が亢進することを証明した (Fig. 3)。



【 Fig. 3 】

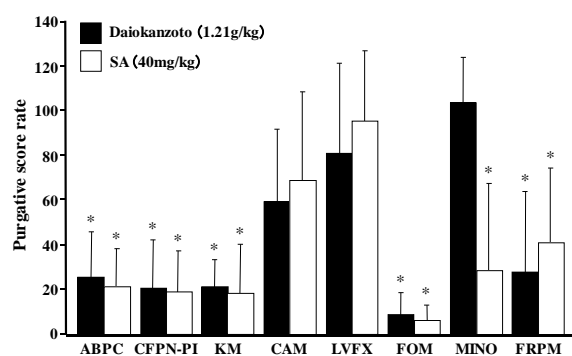
一方、大黄中の SA は SA 単独に比べ代謝を受け易いことから、大黄の水抽出物中の SA 代謝促進成分として rhein 8-*O*- β -D-glucopyranoside (RG) を単離同定した。RG の作用は非糖部のアントラキノン (レイン) に由来し、大黄のアントラキノン成分であるエモジンやアロエエモジンも同様に代謝促進作用を示した。さらに、下剤活性試験によって、RG およびレインが SA 代謝を促進することで、SA の下剤活性を亢進することを実証した (Fig. 4)。



【 Fig. 4 】

第2編 腸内微生物叢の変動によるクロストークの変化に適応する大黄甘草湯の有用性の解明

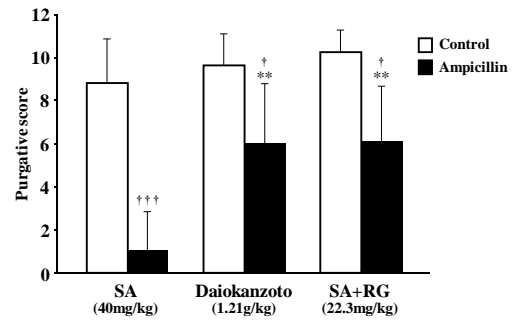
腸内微生物叢を変動させる抗生物質の併用により、大黄を含有する漢方薬はその薬効が低下する可能性が考えられる。医療機関へのアンケート調査で、センノシド製剤や大黄剤と抗生物質の併用が日常的に行われていることが判明した。そこで8種の抗生物質を単回経口投与したマウスに、大黄甘草湯ならびに SA を投与して下剤活性を調べた (Fig. 5)。大黄甘草湯や SA 投与群の下剤活性は、消化管から吸収されにくいアンピシリン、セフカペンピボキシル、カナマイシン、ホスホマイシン、ファロペネムによって強く抑制を受けた。一方、消化管から吸収されやすいクラリスロマイシンやレボフロキサシンは、両投与群の下剤活性に対して顕著な影響を与えなかった。ミノサイクリンに対して SA 投与群は有意に下剤活性の抑制を受けたが、大黄甘草湯投与群の下剤活性は抑制されず、ミノサイクリンに対する大黄甘草湯と SA の反応性の相違を確認した。ミノサイクリンによる下剤活性の抑制は、甘草成分であるグリチルリチンを SA と同時投与することによって回復した。



【 Fig. 5 】

次に、アンピシリン (ABPC) をマウスに8日間投与し続けて、SA 単独と大黄甘草湯の SA 代謝の変化を検討した。その結果、ABPC 投与により SA 代謝は抑制され続けたが、大黄甘草湯の SA 代謝は ABPC 投与3日目以降から有意に回復し、この回復作用に RG が関与することを明らかにした。下剤活性試験

においても SA 投与群は下剤活性を示さなかったが、大黄甘草湯投与群ならびに SA+RG 投与群は有意な下剤活性の亢進を認めた (Fig. 6)。ABPC 投与前後の腸内微生物叢の変動を解析したところ、ビフィズス菌は ABPC 投与直後から全く検出されなかったが、バクテロイデスは ABPC 投与3日目以降から有意に増加した。以上の結果から、大黄甘草湯は ABPC 投与下においても下剤活性を有し、その機序として RG がバクテロイデスの機能を変化させることで SA 代謝能を発現していることが示唆された。



【 Fig. 6 】

【発表論文】

1. Takayama K., Matsui E., Kobayashi T., Inoue H., Tsuruta Y., Okamura N.* High-performance liquid chromatographic determination and metabolic study of sennoside A in daiokanzoto by mouse intestinal bacteria. *Chem.Pharm.Bull.*, **59**, 1106-1109 (2011).
2. Matsui E., Takayama K., Sato E., Okamura N.* The influence of glycyrrhiza and antibiotics on the purgative action of sennoside A from daiokanzoto in mice. *Biol.Pharm.Bull.*, **34**, 1438-1442 (2011).
3. Takayama K.*, Tsutsumi H., Ishizu T., Okamura N. The influence of rhein 8-O-β-D-glucopyranoside on the purgative action of sennoside A from rhubarb in mice. *Biol.Pharm.Bull.*, **35**, 2204-2208 (2012).
4. Takayama K.*, Morita T., Tabuchi N., Fukunaga M., Okamura N. The effect of anthraquinones in daiokanzoto on increasing the synthesis of sennoside A-metabolic enzyme derived from bifidobacteria. *J. Trad. Med.*, **30**, 215-220 (2013).
5. Takayama K.*, Tabuchi N., Fukunaga M., Okamura N. Rhein 8-O-β-D-glucopyranoside elicited the purgative action of daiokanzoto (da-huang-gan-cai-tang), despite dysbiosis by ampicillin. *Biol.Pharm.Bull.*, **39**, 378-383 (2016).
6. Okamura N.*, Takayama K., Kaita T. Effect of goreisan on diarrhea model mouse induced by saline purgative. *Kampo Medicine*, **60**, 493-501 (2009).

学 位 審 査 報 告 書

学位申請者 高 山 健 人

学位論文題目 大黃甘草湯と腸内微生物叢のクロストークに着目した漢方薬の有用性の解明

論文審査委員

主 査 赤 崎 健 司

副主査 井 上 敦 子

副主査 今 重 之

論文審査及び試験の結果の要旨

近年、腸内微生物叢は様々な疾病の発症と関係性のあることが証明され始めている。本論文は、漢方薬成分による腸内微生物叢の多様性や機能変化への影響（クロストーク）が、漢方薬の特異的な薬効発現に関与しているとの仮説を立て、その解明を試みたものである。本研究で用いた大黃甘草湯は、大黃と甘草からなる便秘症の治療薬で、大黃に含まれるセンノシド A がビフィズス菌によって代謝を受け、レインアンスロンに変換されて初めて下剤活性を示す。

第 1 編では、大黃は甘草を配合することで下剤活性を有意に増強することを明らかにし、そのメカニズムとして、甘草成分のリクイリチンやリクイリチンアピオシドによるセンノシド A の代謝促進であることを証明している。さらに、大黃に含まれるセンノシド A 代謝促進成分としてアントラキノン配糖体の rhein 8-*O*- β -D-glucopyranoside (RG) を単離同定し、RG ならびに大黃のアントラキノン成分がセンノシド A の代謝を促進することで、センノシド A の下剤活性を亢進することを実証している。

第 2 編では、多くの抗菌薬は腸内微生物叢の変動を起こし、大黃甘草湯やセンノシド A の下剤活性を抑制することを明らかにしている。大黃甘草湯はミノサイクリンによって下剤活性の抑制を受けにくく、甘草成分のグリチルリチンが関与していることを見出している。アンピシリンの継続投与によって下剤活性は抑制を受け続けるが、RG が大黃甘草湯の下剤活性を速やかに賦活することを実証している。この作用は、抗菌薬で死滅したビフィズス菌の代わりに、RG がバクテロイデスにセンノシド A 代謝能を付与した結果であると示唆している。さらに、高炭水化物および高脂肪飼料摂取は腸内微生物叢の変動を起こし、センノシド A の下剤活性を抑制するが、大黃甘草湯は RG によって下剤活性が維持されることを証明している。

大黃甘草湯における甘草の配合意義をはじめ、複合成分系薬物である漢方薬の有用性を明らかにするとともに、抗菌薬や食餌の摂取による腸内微生物叢の変動に応じて、漢方薬成分が腸内微生物叢とクロストークしている重要な事実を証明しており、博士（薬学）の

学位論文に相応しい内容である。

外国語（英語）筆記試験および本論文の内容に関する口頭試問については、いずれも合格である。